

ホシガレイの全雌種苗生産技術の開発に関する研究  
(Development of the technique for all-female seedling production in the spotted halibut  
*Verasper variegatus*)

長崎大学大学院生産科学研究科  
築山 陽介

ホシガレイ *Verasper variegatus* はカレイ科マツカワ属に分類され、高値で取引される高級魚である。本種はすでに種苗生産技術が開発され、各地で種苗放流および養殖されている。本種の人工種苗の性比は通常 1:1 であるが、他の異体類と同様に雌が雄より成長が良いことから、養殖では雌種苗のみを飼育することが望ましい。全雌種苗を得るためには、1) 雌性ホルモンの投与による性転換、2) 染色体操作による雌性発生、3) 遺伝的雌を雄へ性転換させた偽雄の精子を用いた人工授精等による全雌作出方法があり、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* では全雌種苗生産が実用化されている。雌性ホルモンの投与では少ない労力で大量の種苗を雌へ性転換できるが、食品安全上、養殖魚には適さない。したがって、今後実用化が可能な技術は、染色体操作による雌性発生と遺伝的雌を雄へ性転換させた偽雄の精子を用いた全雌作出である。しかし、染色体操作による雌性発生魚の作出では孵化率が通常発生魚と比較して低く、種苗の量産には解決すべき課題が多い。これに対して偽雄の精子を用いた全雌生産では、大量の雌種苗が得られることから、実用性の高い技術として注目されている。

そこで本研究では、ホシガレイの全雌種苗の生産を目的として、まず雌性発生二倍体の作出について検討し、続いて偽雄の作出に必要となる遺伝的雌の雄化技術の開発に向け、それに必要な性分化に関する基礎的知見の収集と、飼育水温および性ホルモンが性分化に及ぼす影響を調べた。

### 雌性発生二倍体の作出 (第 2 章)

雌性発生による全雌種苗生産を試みた。雌性発生二倍体の作出にはマダイまたはホシガレイの精子を紫外線照射により不活化して用いた。ホシガレイの卵を不活化した精子によって授精させた後、1.5~7 分後に -1~5°C の低水温処理を 30~90 分間継続することで、雌性発生を誘導した。その結果、雌性発生 2 倍体が作出され、少数ではあるが着底稚魚が得られた。雌性発生二倍体の量産は困難であったが、1 尾の雄親魚から量産規模の精子を得られることから、少数であっても雌性発生魚を偽雄の作出に用いることは可能であり、雄化処理を施す群が全雌であれば、後代検定の必要がないことから、全雌種苗の効率的な生産に寄与すると考えられる。

## 人為的な性制御 (第3章)

### ホシガレイの性分化 (第3章, 第1節)

雄化処理を行う際に必要な基礎的知見として、本種の人工種苗を用いて性分化過程を調べた。自然水温(13~18℃)で飼育した90日齢の仔魚では一部の個体の生殖腺に卵母細胞の発達および卵巣腔の形成がみられ、雌への性分化が始まっていた。100日齢では生殖腺の外部形態が2型に分類でき、一方は腹腔最後部から尾部の筋肉に沿って生殖腺が後方へ伸長し、雌への分化が確認された。他方は生殖腺の後方への伸長は認められず、腹腔後部に付着しているだけであり、将来は雄へ分化すると考えられた。

### 高水温飼育による性転換 (第3章, 第2節)

本種仔魚を4日齢から10, 20, 23, 26, 28℃および自然水温で飼育すると、23℃において性比が雄へ偏った。26℃および28℃では仔魚が大量へい死し、飼育を中止した。40日齢から28℃で飼育すると、140日齢の稚魚の生殖腺内には少数の生殖原細胞のみが存在し、性的未分化のままであった。また、95日齢の稚魚を28℃で146日齢まで飼育し、以降は自然水温として飼育した結果、雄への偏りが認められた。これらのことから、23℃以上の高水温は本種仔魚において雄に誘導できるものの生残に悪影響を与えることが分かった。また、28℃処理は雄化を誘導する可能性を持つものの、長期に亘る処理は生残だけでなく生殖腺の発達も強く阻害することが示唆された。

### メチルテストステロン投与による性転換 (第3章, 第3節)

雄性ホルモンであるメチルテストステロン(以下、MT)を本種の仔稚魚に経口投与し、雄化を試みた。その結果、40~300日齢までの期間に0.1および1 $\mu$ g/g $\cdot$ diet添加した区において雄への偏りがみられたが、0.001, 0.01および10 $\mu$ g添加区では性比は1:1であった。また、0.5 $\mu$ g/g $\cdot$ dietを130, 170および300日齢まで投与した区では雄への性比の偏りがみられた。これらのことから、MTを0.5 $\mu$ g/g $\cdot$ diet添加した飼料を性分化開始前の40日齢から少なくとも130日齢まで投与することにより、雌を雄化できることが分かった。

本研究では、ホシガレイの全雌種苗を生産するための技術開発に取り組んだ。本種はヒラメ、マツカワ等と同様に水温依存性の性決定機構を持ち、高水温により雄化できたが、高水温は生残に悪影響を及ぼすことから、水温制御により雄化を促すのは困難であった。しかし、MTの経口投与では効率的な雄化が可能であったことから、この方法は偽雄の作出に有効であると考えられた。本研究では、雌性発生二倍体の大量生産には至らなかったが、今後、雌性発生魚に雄化処理を施して偽雄を作出することにより、効率的な全雌種苗生産の実用化が期待される。